

First Hit

L1: Entry 1 of 2

File: EPAB

Mar 2, 1995

PUB-NO: WO009506068A1

DOCUMENT-IDENTIFIER: WO 9506068 A1

TITLE: NOVEL POLYSACCHARIDE AND RADIOPROTECTIVE AGENT CONTAINING THE SAME AS ACTIVE INGREDIENT

PUBN-DATE: March 2, 1995

## INVENTOR-INFORMATION:

## NAME

## COUNTRY

YAMADA, HARUKI

JP

KIYOHARA, HIROAKI

JP

YONEZAWA, MORIO

JP

SHINOHARA, SEIICHI

JP

## ASSIGNEE-INFORMATION:

## NAME

## COUNTRY

TSUMURA &amp; CO

JP

KITASATO INST

JP

YAMADA HARUKI

JP

KIYOHARA HIROAKI

JP

YONEZAWA MORIO

JP

SHINOHARA SEIICHI

JP

APPL-NO: JP09401385

APPL-DATE: August 22, 1994

PRIORITY-DATA: JP22779993A (August 23, 1993)

INT-CL (IPC): C08 B 37/00

EUR-CL (EPC): C08B037/00

## ABSTRACT:

A polysaccharide containing arabinose, galactose, glucose, rhamnose, galacturonic acid and glucuronic acid as the constituent sugars each in an amount of 1 mole % or above and having a molecular weight of  $5 \times 10^4$  to  $1 \times 10^6$ . The polysaccharide has the effect of improving a hematopoietic function and serves as a radioprotective agent for treating or preventing radiation injury.

First Hit**End of Result Set**

L1: Entry 2 of 2

File: DWPI

Mar 2, 1995

DERWENT-ACC-NO: 1995-106814

DERWENT-WEEK: 199514

COPYRIGHT 2004 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: New polysaccharide, for treating or preventing radiation injury - contg.  
arabinose, galactose, glucose, rhamnose, galacturonic acid and glucuronic acid

INVENTOR: KIYOHARA, H; SHINOHARA, S ; YAMADA, H ; YONEZAWA, M

## PATENT-ASSIGNEE:

ASSIGNEE

CODE

TSUMURA &amp; CO

TSUR

KITASATO KENKYUSHO SH

KITA

KITASATO INST

KITA

PRIORITY-DATA: 1994JP-0038814 (March 9, 1994), 1993JP-0227799 (August 23, 1993)

Search Selected

Search ALL

Clear

## PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
<input type="checkbox"/> WO 9506068 A1	March 2, 1995	J	023	C08B037/00
<input type="checkbox"/> AU 9474679 A	March 21, 1995		000	C08B037/00
<input type="checkbox"/> JP 07113001 A	May 2, 1995		008	C08B037/00

DESIGNATED-STATES: AU CA KR US AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE

CITED-DOCUMENTS:JP 63061003; US 4965354

## APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DATE	APPL-NO	DESCRIPTOR
WO 9506068A1	August 22, 1994	1994WO-JP01385	
AU 9474679A	August 22, 1994	1994AU-0074679	
AU 9474679A		WO 9506068	Based on
JP 07113001A	March 9, 1994	1994JP-0038814	

INT-CL (IPC): A61 K 31/715; A61 K 35/78; C08 B 37/00

ABSTRACTED-PUB-NO: WO 9506068A

BASIC-ABSTRACT:

A polysaccharide (I) comprises arabinose, galactose, glucose, rhamnose,

galacturonic acid and glucuronic acid as the constituent sugars each in an amount of at least 1 mole%, and has a mol.wt. of 5 multiply 104 to 1 multiply 106.

Also claimed is an agent to protect against radiation, contg. material extracted from 'toki' (a plant of the oenantho family).

USE - (I) is the active component of agents for preventing or treating radiation injury (claimed method), and in medicines for improving the haematopoietic function.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

TITLE-TERMS: NEW POLYSACCHARIDE TREAT PREVENT RADIATE INJURY CONTAIN ARABINOSE  
GALACTOSE GLUCOSE RHAMNOSE GALACTURONIC ACID GLUCURONIC ACID

DERWENT-CLASS: B04 D17 K07

CPI-CODES: B04-C02; B14-N17B; D06-H; K07-A02;

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 \*01\*

Fragmentation Code

M423 M710 M903 P520 P646 Q444 V400 V406 V735

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C1995-048660

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局



## 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 6 C08B 37/00	AI	(11) 国際公開番号 WO 95/06068  (43) 国際公開日 1995年3月2日 (02.03.95)
(21) 国際出願番号 PCT/JP94/01385 (22) 国際出願日 1994年8月22日 (22. 08. 94)  (30) 優先権データ 特願平5/227799 1993年8月23日 (23. 08. 93) JP 特願平6/38814 1994年3月9日 (09. 03. 94) JP  (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 ツムラ (TSUMURA & CO.) (JP/JP) 〒103 東京都中央区日本橋三丁目4番10号 Tokyo, (JP) 社団法人 北里研究所 (THE KITASATO INSTITUTE) (JP/JP) 〒108 東京都港区白金5丁目9番1号 Tokyo, (JP)  (72) 発明者: および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 山田陽城 (YAMADA, Haruki) (JP/JP) 清原寛章 (KIYOHARA, Hiroaki) (JP/JP) 〒108 東京都港区白金5丁目9番1号 社団法人北里研究所 東洋医学総合研究所内 Tokyo, (JP) 米澤司郎 (YONEZAWA, Morio) (JP/JP) 〒590-01 大阪府堺市三原台2丁目4番10号 Osaka, (JP) 篠原精一 (SHINOHARA, Seiichi) (JP/JP) 〒102 東京都千代田区二番町12-7 株式会社ツムラ内 Tokyo, (JP)	(74) 代理人 弁理士 平木祐輔, 外 (HIRAKI, Yusuke et al.) 〒105 東京都港区虎ノ門二丁目7番7号 虎ノ門中ビル2F Tokyo, (JP)  (81) 指定国 AU, CA, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  添付公開書類 国際調査報告書	
(54) Title : NOVEL POLYSACCHARIDE AND RADIOPROTECTIVE AGENT CONTAINING THE SAME AS ACTIVE INGREDIENT (54) 発明の名称 新規多糖体及び該多糖体を有効成分とする放射線防護剤 (57) Abstract <p>A polysaccharide containing arabinose, galactose, glucose, rhamnose, galacturonic acid and glucuronic acid as the constituent sugars each in an amount of 1 mole % or above and having a molecular weight of <math>5 \times 10^4</math> to <math>1 \times 10^6</math>. The polysaccharide has the effect of improving a hematopoietic function and serves as a radioprotective agent for treating or preventing radiation injury.</p>		

(57) 要約

本発明は、アラビノース、ガラクトース、グルコース、ラムノース、ガラクトツロン酸及びグルクロン酸を、それぞれ1モル%以上構成糖として含み、分子量が $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ である多糖体及び該多糖体を有効成分とする放射線防護剤に関する。

本発明の多糖体は、造血機能を改善する作用を有し、放射線防護剤として、放射線被曝による障害の治療及び予防に使用される。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AM	アルメニア	DK	デンマーク	LI	リヒテンシュタイン	PT	ポルトガル
AT	オーストリア	EE	エストニア	LK	スリランカ	RO	ルーマニア
AU	オーストラリア	ES	スペイン	LR	リベリア	RU	ロシア連邦
BB	バルバドス	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SD	スーダン
BE	ベルギー	FR	フランス	LU	ルクセンブルグ	SE	スウェーデン
BG	ブルガリア	GA	ガボン	LV	ラトヴィア	SI	スロヴェニア
BJ	ベナン	GB	イギリス	MC	モナコ	SK	スロヴァキア共和国
BR	ブラジル	GE	グルジア	MD	モルドバ	SN	セネガル
BY	ベラルーシ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	SZ	スワジランド
CA	カナダ	GR	ギリシャ	ML	マリ	TD	チャード
CF	中央アフリカ共和国	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TG	トーゴ
CG	コンゴ	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	TJ	タジキスタン
CH	スイス	IT	イタリア	MW	マラウイ	TT	トリニダード・トバゴ
CI	コート・ジボアール	JP	日本	MX	メキシコ	UA	ウクライナ
CM	カメルーン	KE	ケニア	NE	ニジェール	UG	ウガンダ
CN	中国	KG	キルギスタン	NL	オランダ	US	米国
CZ	チェコ共和国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NO	ノルウェー	UZ	ウズベキスタン共和国
DE	ドイツ	KR	大韓民国	NZ	ニュージーランド	VN	ヴェトナム
		KZ	カザフスタン	PL	ポーランド		

## 明 細 書

## 新規多糖体及び該多糖体を有効成分とする放射線防護剤

## 技術分野

本発明は、放射線被曝による障害の治療及び予防に有用な造血機能改善作用を有する新規多糖体及び該多糖体の放射線防護剤としての用途に関する。

## 背景技術

近年の技術革新に伴う、原子力発電所からの人工放射性核種、医療における放射線（X線、 $\gamma$ 線、中性子線、アイソトープ）、工業・農業等における放射線（ $\gamma$ 線）の利用等による放射線の被曝の危険は、地球的な環境問題、医療上の問題として注目されている。

生体が大量の放射線を被曝した場合、即ち大量の放射線が生体内を通過すると生体組織の障害が生じる。特に、全身あるいは腹部を含んだ広範囲に、短時間で大量の放射線を被曝すると発症してくる一連の症候群を急性放射線症候群という。その症状は、線量に応じて標的臓器のそれぞれの症状が加算されて出現する。

10 Gy（グレイ）以下の線量の被曝では、標的臓器は骨髓であるので白血球減少による感染症、血小板減少による出血傾向等が出現し、適切な治療をほどこさないと死に至る場合がある。更に、10 Gy以上の被曝では、骨髓障害が高度となり、その線量が増加するにつれて、消化器障害も加わって、症状は一層重篤なものとなる。

一方、これらの症状には、無菌室への患者の収容、抗生物質の投与、成分輸血等の治療法がとられているが、これらは決定的な治療法ではなく、放射線被曝による生体への有害効果から生体を防護する薬剤、つまり放射線防護剤の開発が望まれている。

従来、放射線防護活性を有するものとして、メルカプト基を有する化合物、シアン化合物、アミン、ホルモン、キレート化剤等が知られているが、多糖体で放射線防護活性を有するものとしては、 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-グルカン、グルコマンナ

ンが知られているのみであり、また放射線被曝により低下した血小板生成造血機能を改善する作用を有するものは知られていない。

#### 発明の開示

本発明は、放射線防護活性を有する新規多糖体を提供することを目的とする。

前述のとおり、急性放射線症候群では、骨髓障害が認められ、顕著に血球細胞（白血球、血小板等）の分化増殖を含む造血機能の抑制が生じることが広く知られている。従って、この造血機能を改善する作用を有する薬物は、放射線防護剤として有用である。

そこで、本発明者等は、造血機能を改善する作用を有する医薬を見い出すべく鋭意研究を重ねた結果、当帰から得られた新規多糖体が血小板生成造血機能を改善する作用を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

本発明は、以下の発明を包含する。

(1) アラビノース、ガラクトース、グルコース、ラムノース、ガラクツロン酸及びグルクロン酸を、それぞれ1モル%以上構成糖として含み、分子量が $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ である多糖体。

(2) 更に、マンノース、フコース、2-メチルフコース、キシロース及び2-メチルキシロースを構成糖として含む前記(1)に記載の多糖体。

(3) 構成糖のモル比が、アラビノース10.0～30.0、ガラクトース10.0～30.0、マンノース0.5～4.0、グルコース2.5～15.0、ラムノース7.0～18.0、ガラクツロン酸17.0～47.0、グルクロン酸3.0～11.0、フコース0.5～2.5、2-メチルフコース0.01～0.6、キシロース0.2～2.0、2-メチルキシロース0.3以下である前記(2)に記載の多糖体。

(4) 構成糖のモル比が、アラビノース約13.0、ガラクトース約12.1、マンノース約1.8、グルコース約3.8、ラムノース約15.0、ガラクツロン酸約46.0、グルクロン酸約5.6、フコース約0.8、2-メチルフコース約0.4、キシロース約1.3、2-メチルキシロース約0.2で、分子量が約 $2.6 \times 10^5$ である前記(3)に記載の多糖体。

(5) 構成糖のモル比が、アラビノース約29.3、ガラクトース約22.8、マンノース約0.8、グルコース約5.8、ラムノース約14.7、ガラクツロン酸約20.4、グルクロン酸約3.4、フコース約1.2、2-メチルフコース約0.03、キシロース約1.3、2-メチルキシロース約0.2で、分子量が約 $8.8 \times 10^5$ である前記(3)に記載の多糖体。

(6) 構成糖のモル比が、アラビノース約20.3、ガラクトース約28.5、マンノース約2.8、グルコース約7.7、ラムノース約7.7、ガラクツロン酸約19.5、グルクロン酸約10.9、フコース約1.5、2-メチルフコース約0.02、キシロース約1.0、2-メチルキシロース約0.02で、分子量が約 $8.8 \times 10^4$ である前記(3)に記載の多糖体。

(7) 更に、マンノース、フコース、キシロース及び2-メチルキシロースを構成糖として含む前記(1)に記載の多糖体。

(8) 構成糖のモル比が、アラビノース10.0~30.0、ガラクトース10.0~30.0、マンノース0.5~4.0、グルコース2.5~15.0、ラムノース7.0~18.0、ガラクツロン酸17.0~47.0、グルクロン酸3.0~11.0、フコース0.5~2.5、キシロース0.2~2.0、2-メチルキシロース0.3以下である前記(7)に記載の多糖体。

(9) 構成糖のモル比が、アラビノース約24.7、ガラクトース約19.4、マンノース約1.4、グルコース約3.3、ラムノース約17.7、ガラクツロン酸約23.0、グルクロン酸約8.8、フコース約1.2、キシロース約0.4、2-メチルキシロース約0.01以下で、分子量が約 $8.6 \times 10^5$ である前記(8)に記載の多糖体。

(10) 構成糖のモル比が、アラビノース約22.1、ガラクトース約17.9、マンノース約3.2、グルコース約14.4、ラムノース約11.2、ガラクツロン酸約18.1、グルクロン酸約9.6、フコース約1.9、キシロース約1.6、2-メチルキシロース約0.01以下で、分子量が約 $8.6 \times 10^5$ である前記(8)に記載の多糖体。

(11) 構成糖結合様式として、1,2結合ラムノース、1,2,4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1,5結合アラビノフラノース、1,3,5分岐



アラビノフラノース、末端ガラクトース、1，6結合ガラクトース、1，4結合ガラクトース、1，4，6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクトン酸及び1，4結合ガラクトン酸を含む前記(1)～(10)のいずれかに記載の多糖体。

(12) 前記(1)～(11)のいずれかに記載の多糖体を有効成分として含有する放射線防護剤。

(13) 当帰の抽出物を有効成分として含有する放射線防護剤。

(14) 当帰の抽出物が熱水抽出エキスである前記(13)に記載の放射線防護剤。

(15) 有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水可溶性の多糖体である前記(13)に記載の放射線防護剤。

(16) 有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水不溶性の多糖体である前記(13)に記載の放射線防護剤。

(17) 前記(1)～(11)のいずれかに記載の多糖体を有効成分として含有する組成物を使用することを特徴とする放射線被曝による障害の治療及び予防方法。

(18) 当帰の抽出物を有効成分として含有する組成物を使用することを特徴とする放射線被曝による障害の治療及び予防方法。

(19) 当帰の抽出物が熱水抽出エキスである前記(18)に記載の放射線被曝による障害の治療及び予防方法。

(20) 有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水可溶性の多糖体である前記(18)に記載の放射線被曝による障害の治療及び予防方法。

(21) 有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水不溶性の多糖体である前記(18)に記載の放射線被曝による障害の治療及び予防方法。

本発明の多糖体は、前記の性質を有しており、このような多糖体に関する発表は全くなされていないことから、本発明の多糖体は新規な多糖体であると認められる。

本発明の多糖体は、例えば次のようにして得ることができる。

まず、当帰、原植物であるセリ科のトウキ又はその他近縁植物を破碎し、10～20倍量程度の水性溶剤にて抽出し、抽出液をろ過して得たる液を遠心分離し、上清を凍結乾燥して乾燥物を得る。抽出に用いる水性溶剤としては、水、特

に精製水が好ましく、抽出にあたっては熱時抽出が好ましい。

この乾燥物をアセトン、メタノール、エタノール等の有機溶媒に溶解し、場合によっては還流した後、遠心分離して脂質成分を除いた沈殿物を精製水に溶解し、更に透析を行い、非透析物を凍結乾燥して粗画分を得る。透析に際しては、流水又は精製水に対し2～5日間程度行えばよい。

次いで、得られた粗画分を更にイオン交換クロマトグラフィー等で精製する。イオン交換クロマトグラフィーの担体の具体例としては、DEAE-セファロース(Sephacrose) CL-6B等が挙げられ、溶出に用いる水性溶媒としては、水、希薄な無機塩水溶液(例えば塩化ナトリウム、塩化カリウム等の水溶液)、弱酸性水溶液(例えば0.05モルまでの酢酸、0.05モルまでのシュウ酸等)が挙げられる。

また、本発明の多糖体を更に精製するには、ゲルろ過法を合わせて行えばよく、その担体の具体例としては、セファロースCL-6B、セファロースCL-4Bが挙げられ、溶離液としては無機塩水溶液等を用いる。

以上のようにして得られる本発明の多糖体は、アラビノース、ガラクトース、グルコース、ラムノース、ガラクトツロン酸及びグルクロン酸を、それぞれ1モル%以上構成糖として含むものであるが、更にマンノース、フコース、2-メチルフコース、キシロース、2-メチルキシロースを構成糖として含んでいてもよく、また、その他、アピオース等を微量構成糖として含んでいてもよい。

本発明の多糖体及び当帰の抽出物は、優れた造血機能改善作用を有し、放射線防護剤として、放射線被曝による障害の治療及び予防に使用される。

本発明の放射線防護剤の有効成分である当帰の抽出物は、古くから漢方処方の構成生薬として使用されており、安全性は確立されている。即ち、ddYウィスター系マウスに経口で限界投与量(15g/匹)を投与しても死亡例は認められない。本発明の多糖体も当帰の抽出物から得られるものであり、同様に安全性が高いと考えられる。

本発明の多糖体の放射線防護剤としての有効投与量は、患者の年齢、体重、症状又は放射線被曝の程度により異なるが、通常成人で1回50～100mgを1日1～3回の内服、あるいは1回10～20mgを1日1～3回の静脈注射、筋

肉内注射が適当である。また、有効成分として熱水抽出エキス等の当帰の抽出物を用いる場合は、通常成人で1回2～15gを1日1～3回の内服が適当である。

また、本発明の多糖体等を放射線防護剤として用いるにあたり、本発明の多糖体等に通常の製剤に用いられる賦形剤、補助剤等を加えて製剤製法の常法に従って、注射剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤及びシロップ剤等の製剤として用いることもできる。

経口投与のために少なくとも一種の賦形剤、例えばデンプン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース等を用いて錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等に処方することができる。

この種の製剤には、適宜前記賦形剤の他に、例えばステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、タルク等の滑沢剤、デキストリン、結晶セルロース、ポリビニルピロリドン、アラビアゴム、トウモロコシデンプン、ゼラチン等の結合剤、バレイショデンプン、カルボキシメチルセルロース等の崩壊剤を使用することができる。

また、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、エリキシル剤として投与することができ、これら剤型には、矯味矯臭剤、着色剤を含有してもよい。

非経口用製剤として、適当な基剤と混和してクリーム、軟膏剤、パップ剤、注射剤又は坐剤とすることができる。

希釈剤として一般に注射用蒸留水、生理食塩水、デキストロース水溶液、注射用植物油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等を用いることができる。更に必要に応じて、適宜等張化剤、溶解補助剤、安定剤、防腐剤、無痛化剤等を加えてもよい。また、この種の剤型の場合、滅菌された注射用媒体に溶解することが望ましい。

#### 発明を実施するための最良の形態

以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明の範囲はこれにより何ら制限されるものではない。

##### (実施例1) 粗多糖体の分離

当帰（奈良県産）500gを10リットルの精製水を用いて半量になるまで煎じ、ステンレスメッシュでのろ過や遠心分離により、煎じ液と残渣とに分けた。残渣は、再び7リットルの精製水を用いて同様の方法により煎じ、煎じ液と残渣を得た。得られた煎じ液を合わせて凍結乾燥することにより、熱水抽出エキス251.78gを得た。この熱水抽出エキスを3リットルのメタノールを用いて1時間還流後、遠心分離することにより抽出液と残渣に分け、残渣についてこの操作を3回繰り返した。最終的に得られた残渣を精製水に溶解後、水道水で3日間、次いで精製水で3日間、セルロース製半透膜（ビスキング社製）を用いて透析した。非透析性画分を遠心分離することにより沈殿を除去後、上清を凍結乾燥することにより非透析性のメタノール不溶性－水可溶性の粗多糖体画分27.21gを得た。

透析前の残渣（メタノール不溶性画分）、非透析性のメタノール不溶性－水可溶性の粗多糖体画分、沈殿物として得られた非透析性のメタノール不溶性－水不溶性の粗多糖体画分及びメタノール可溶性画分についてマウス腹腔内投与により放射線防護活性を検討した結果、透析前の残渣（メタノール不溶性画分）3.8mg/匹投与では危険率5%未満で、非透析性のメタノール不溶性－水可溶性の粗多糖体画分10.0mg/匹投与及び沈殿物として得られた非透析性のメタノール不溶性－水不溶性の粗多糖体画分5.0mg/匹投与では危険率1%未満で、有意に（対照群には生理食塩水を投与）放射線照射による血小板低下が抑制されたが、メタノール可溶性画分では血小板低下の抑制は観察されなかった。

（実施例2） 多糖体のイオン交換クロマトグラフィー及びゲルろ過クロマトグラフィーによる精製

（1）実施例1で得た水可溶性の粗多糖体2.0gを精製水200mlに溶解後、この溶液を水で平衡化したDEAE－セファロースCL－6B（C1<sup>-</sup>型）カラムに添加し、未吸着画分を精製水で溶出させることにより除去した。カラムに吸着した画分について、50mM NaCl水溶液、100mM NaCl水溶液、200mM NaCl水溶液、250mM NaCl水溶液、300mM NaCl水溶液、2M NaCl水溶液で順次溶出させた。

（2）300mM NaCl水溶液で溶出された画分を透析及び凍結乾燥するこ

とにより、300mM NaCl溶出多糖体画分（平均収率：3.8%）を放射線防護活性多糖体画分として得た。

得られた多糖体画分100mgを0.2M NaCl水溶液3mlに溶解後、0.2M NaCl水溶液で平衡化したセファロースCL-6Bカラムに添加し、0.2M NaCl水溶液を用いて5.2mlずつ分画した。

得られた各溶出液について糖、ウロン酸の比色定量と280nmでの紫外部吸収を測定し、分子量 $2.6 \sim 2.0 \times 10^5$ の多糖体を含む画分及び分子量 $5.0 \times 10^5$ 以上の多糖体を含む画分を得た。

分子量 $2.6 \sim 2.0 \times 10^5$ の多糖体を含む画分を透析後、再度同様の方法によりセファロースCL-6Bカラムを用いて、分子量約 $2.6 \times 10^5$ の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体（本発明の多糖体（I））を得た（粗多糖体画分からの収率：0.24%）。本発明の多糖体（I）は、Asahi-Pak GS510+GS320を用いたGPCカラムによるHPLCにより、単一の多糖体であることが確認された。

本発明の多糖体（I）の性質を以下に示す。

- (a) 性状：白色繊維状
- (b) 分子量：約 $2.6 \times 10^5$
- (c) 構成糖及びモル比

アラビノース：約13.0

ガラクトース：約12.1

マンノース：約1.8

グルコース：約3.8

ラムノース：約15.0

ガラクツロン酸：約46.0

グルクロン酸：約5.6

フコース：約0.8

2-メチルフコース：約0.4

キシロース：約1.3

2-メチルキシロース：約0.2

(d) 構成糖結合様式：1, 2結合ラムノース、1, 2, 4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1, 5結合アラビノフラノース、1, 3, 5分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1, 6結合ガラクトース、1, 4結合ガラクトース、1, 4, 6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクトン酸及び1, 4結合ガラクトン酸を含む。

また、分子量 $5.0 \times 10^5$ 以上の多糖体を含む画分を透析後、再度同様の方法によりセファロースCL-6Bカラムを用いて、分子量約 $8.6 \times 10^5$ の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体（本発明の多糖体(III)）を得た（粗多糖体画分からの収率：0.13%）。本発明の多糖体(III)は、Asahi-Pak GS710 + GS620を用いたGPCカラムによるHPLCにより、単一の多糖体であることが確認された。

本発明の多糖体(III)の性質を以下に示す。

(a) 性状：白色繊維状

(b) 分子量：約 $8.6 \times 10^5$

(c) 構成糖及びモル比

アラビノース：約24.7

ガラクトース：約19.4

マンノース：約1.4

グルコース：約3.3

ラムノース：約17.7

ガラクトン酸：約23.0

グルクロン酸：約8.8

フコース：約1.2

キシロース：約0.4

2-メチルキシロース：約0.01以下

(d) 構成糖結合様式：1, 2結合ラムノース、1, 2, 4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1, 5結合アラビノフラノース、1, 3, 5分岐アラビ

ノフラノース、末端ガラクトース、1, 6結合ガラクトース、1, 4結合ガラクトース、1, 4, 6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクツロン酸及び1, 4結合ガラクツロン酸を含む。

(3) (1) において50mM NaCl水溶液で溶出された画分を透析及び凍結乾燥することにより、50mM NaCl溶出多糖体画分（平均収率：3.86%）を放射線防護活性多糖体画分として得た。

得られた多糖体画分200mgを0.2M NaCl水溶液2mlに溶解後、0.2M NaCl水溶液で平衡化したセファロースCL-6Bカラムに添加し、0.2M NaCl水溶液を用いて5.2mlずつ分画した。

得られた各溶出液について糖、ウロン酸の比色定量と280nmでの紫外部吸収を測定し、分子量 $2.0 \times 10^5$ 以上の多糖体を含む画分を得た。

この画分を透析後、再度同様の方法によりセファロースCL-6Bカラムを用いて、分子量約 $8.8 \times 10^5$ の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体（本発明の多糖体（II））を得た（粗多糖体画分からの収率：0.11%）。本発明の多糖体（II）は、Asahi-Pak GS710+GS620を用いたGPCカラムによるHPLCにより、単一の多糖体であることが確認された。

本発明の多糖体（II）の性質を以下に示す。

- (a) 性状：白色繊維状
- (b) 分子量：約 $8.8 \times 10^5$
- (c) 構成糖及びモル比

アラビノース：約29.3

ガラクトース：約22.8

マンノース：約0.8

グルコース：約5.8

ラムノース：約14.7

ガラクツロン酸：約20.4

グルクロン酸：約3.4

フコース：約1.2

2-メチルフコース：約0.03

キシロース：約1.3

2-メチルキシロース：約0.2

(d) 構成糖結合様式：1, 2結合ラムノース、1, 2, 4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1, 5結合アラビノフラノース、1, 3, 5分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1, 6結合ガラクトース、1, 4結合ガラクトース、1, 4, 6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクトン酸及び1, 4結合ガラクトン酸を含む。

(4) (1) において2M NaCl水溶液で溶出された画分を透析及び凍結乾燥することにより、2M NaCl溶出多糖体画分（平均収率：4.83%）を放射線防護活性多糖体画分として得た。

得られた多糖体画分200mgを0.2M NaCl水溶液2mlに溶解後、0.2M NaCl水溶液で平衡化したセファロースCL-6Bカラムに添加し、0.2M NaCl水溶液を用いて5.2mlずつ分画した。

得られた各溶出液について糖、ウロン酸の比色定量と280nmでの紫外部吸収を測定し、分子量 $10.0 \sim 3.0 \times 10^5$ の多糖体を含む画分及び分子量 $25.0 \sim 1.0 \times 10^4$ の多糖体を含む画分を得た。

分子量 $10.0 \sim 3.0 \times 10^5$ の多糖体を含む画分を透析後、再度同様の方法によりセファロースCL-6Bカラムを用いて、分子量約 $8.6 \times 10^5$ の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体（本発明の多糖体（IV））を得た（粗多糖体画分からの収率：0.56%）。本発明の多糖体（IV）は、Asahi-Pak GS710 + GS620を用いたGPCカラムによるHPLCにより、単一の多糖体であることが確認された。

本発明の多糖体（IV）の性質を以下に示す。

(a) 性状：茶褐色繊維状

(b) 分子量：約 $8.6 \times 10^5$

(c) 構成糖及びモル比

アラビノース：約22.1



ガラクトース：約17.9

マンノース：約3.2

グルコース：約14.4

ラムノース：約11.2

ガラクツロン酸：約18.1

グルクロン酸：約9.6

フコース：約1.9

キシロース：約1.6

2-メチルキシロース：約0.01以下

(d) 構成糖結合様式：1, 2結合ラムノース、1, 2, 4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1, 5結合アラビノフラノース、1, 3, 5分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1, 6結合ガラクトース、1, 4結合ガラクトース、1, 4, 6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクツロン酸及び1, 4結合ガラクツロン酸を含む。

また、分子量 $25.0 \sim 1.0 \times 10^4$ の多糖体を含む画分を透析後、再度同様の方法によりセファロースCL-6Bカラムを用いて、分子量約 $8.8 \times 10^4$ の多糖体を含む画分を精製し、この画分を透析、凍結乾燥することにより、精製放射線防護多糖体（本発明の多糖体（V））を得た（粗多糖体画分からの収率：0.51%）。本発明の多糖体（V）は、Asahi-Pak GS 510+GS 320を用いたGPCカラムによるHPLCにより、単一の多糖体であることが確認された。

本発明の多糖体（V）の性質を以下に示す。

(a) 性状：茶褐色繊維状

(b) 分子量：約 $8.8 \times 10^4$

(c) 構成糖及びモル比

アラビノース：約20.3

ガラクトース：約28.5

マンノース：約2.8

グルコース：約7.7

ラムノース：約7.7

ガラクツロン酸：約19.5

グルクロン酸：約10.9

フコース：約1.5

2-メチルフコース：約0.02

キシロース：約1.0

2-メチルキシロース：約0.02

(d) 構成糖結合様式：1, 2結合ラムノース、1, 2, 4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1, 5結合アラビノフラノース、1, 3, 5分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1, 6結合ガラクトース、1, 4結合ガラクトース、1, 4, 6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクツロン酸及び1, 4結合ガラクツロン酸を含む。

### (実施例3) X線照射したマウスへの影響

#### (1) 動物

緑膿菌に感染していない正常マウス（ICR系、雄）を4週齢で購入し、6週齢まで飼育室（温度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 10\%$ 、100%新鮮外気）で飼育慣らした（使用時平均体重：30g）。1ケージ当たり10匹で飼育した。半数（5匹）の背中に、95%エタノールに溶かしたピクリン酸を筆で塗って標識し、薬物投与群とした。標識のない5匹のマウスを対照群とした。実験には、2ケージ（20匹）のマウスを用いた。

#### (2) X線照射及び薬物の投与

マウスを1匹ずつ、呼吸のために小さな穴をいくつもあけたカプセルに入れ、照射台上に10カプセルを放射状に配置して回転照射した。X線照射は、260kV、15.5mA、0.3mmCu+0.5mmAlフィルター、毎分0.50Gy（グレイ）の条件で5.5Gy（11分間）の全身照射を行った。

照射終了後、マウスをカプセルから出し、インシュリン注射用注射器を使用して、照射後4分以内に、薬物投与群には0.2~0.5mlの薬剤、対照群には薬剤の溶解に用いた溶媒（生理的食塩水）を腹腔内注射した。

#### (3) 血小板の計測

X線照射14日後に、マウスの頸部を解剖用ハサミで切断し、噴出する血液を血液凝固防止剤のエチレンジアミン四酢酸・2カリウム塩を入れたプラスチック製シャーレに採取した。採取の数分後に、多項目血球計数装置（Sysmex K-1000、東亜医用電子株式会社製）で計数して血小板数を求めた。薬物投与群と対照群（各々10匹）の差の有無は、t検定で行った。危険率5%未満の場合を有意差あり（有効）と判断した。

結果を表1に示す。

表 1

実験No.	X 線 照 射	投 与 薬 物	投 与 量 (mg/匹)	血小板数* ( $\times 10^4/\mu l$ )
0	無 (正常マウス)	生理的食塩水	—	156.91 $\pm$ 4.91
1	有	生理的食塩水	—	39.88 $\pm$ 6.49
		多糖体 (I)	1.5	68.93 $\pm$ 8.49**
2	有	生理的食塩水	—	28.97 $\pm$ 4.56
		多糖体 (II)	0.97	56.43 $\pm$ 6.81**
3	有	生理的食塩水	—	41.48 $\pm$ 4.71
		多糖体 (III)	0.93	78.35 $\pm$ 10.92**
4	有	生理的食塩水	—	35.82 $\pm$ 3.70
		多糖体 (IV)	0.95	81.59 $\pm$ 10.79**
5	有	生理的食塩水	—	34.85 $\pm$ 5.21
		多糖体 (V)	0.93	64.35 $\pm$ 6.38**

\* 平均値 $\pm$ 標準誤差 [SD / (N-1)<sup>1/2</sup>]

\*\* 危険率2%以下

表1に示す結果から、本発明の多糖体が顕著な増血機能改善作用を有することがわかる。

#### (実施例4)

実施例2で得られた本発明の多糖体30gを微結晶セルロース155g及びステアリン酸マグネシウム5gと混合し、この混合物を単発式打錠機にて打錠して直径7mm、重量190mgの錠剤を製造した。

本錠剤1錠中には実施例2で得られた本発明の多糖体30mgが含有されている。本錠剤は症状にあわせて1回2～3錠を1日3回服用する。

## (実施例5)

実施例2で得られた本発明の多糖体10gをトウモロコシデンプン490gと混合し水を加えて練合し、1mm×1mmの網目を有するスクリーンにて造粒して乾燥し顆粒剤とした。

本顆粒剤1g中には実施例2で得られた本発明の多糖体20mgが含有されている。本顆粒剤は症状にあわせて1回3～5gを1日3回服用する。

## (実施例6)

実施例2で得られた本発明の多糖体20gを乳糖70g及びステアリン酸マグネシウム10gと混合し、500mgずつ硬カプセルに充填した。

本カプセル剤1カプセル中には実施例2で得られた本発明の多糖体100mgが含有されている。本カプセル錠は症状にあわせて1回1カプセルを1日2～3回服用する。

## (実施例7)

実施例2で得られた本発明の多糖体10gを水80mlに溶解し、オレンジエッセンス2ml及び単シロップを加えて全量1000mlのシロップ剤とした。

本シロップ剤1ml中には実施例2で得られた本発明の多糖体10mgが含有されている。本シロップ剤は症状にあわせて1回5～10mlを1日3回服用する。

## (実施例8)

実施例2で得られた本発明の多糖体5gを注射剤製造の常法に従って、注射用蒸留水1リットルに溶解し、塩化ナトリウムを加えることにより等張化し、10mlずつバイアルに分注して注射剤とした。

本注射剤1ml中には、実施例2で得られた本発明の多糖体5mgが含有されている。本注射剤は症状にあわせて1回2～4mlを1日3回静脈注射又は筋肉内注射する。

## 産業上の利用分野

本発明によれば、造血機能を改善する作用を有し、放射線防護剤として有用な

新規多糖体を提供することができる。本発明の放射線防護剤は、放射線被曝による障害の治療及び予防に有効である。

## 請 求 の 範 囲

1. アラビノース、ガラクトース、グルコース、ラムノース、ガラクトン酸及びグルクロン酸を、それぞれ1モル%以上構成糖として含み、分子量が $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ である多糖体。

2. 更に、マンノース、フコース、2-メチルフコース、キシロース及び2-メチルキシロースを構成糖として含む請求の範囲第1項記載の多糖体。

3. 構成糖のモル比が、アラビノース10.0~30.0、ガラクトース10.0~30.0、マンノース0.5~4.0、グルコース2.5~15.0、ラムノース7.0~18.0、ガラクトン酸17.0~47.0、グルクロン酸3.0~11.0、フコース0.5~2.5、2-メチルフコース0.01~0.6、キシロース0.2~2.0、2-メチルキシロース0.3以下である請求の範囲第2項記載の多糖体。

4. 構成糖のモル比が、アラビノース約13.0、ガラクトース約12.1、マンノース約1.8、グルコース約3.8、ラムノース約15.0、ガラクトン酸約46.0、グルクロン酸約5.6、フコース約0.8、2-メチルフコース約0.4、キシロース約1.3、2-メチルキシロース約0.2で、分子量が約 $2.6 \times 10^5$ である請求の範囲第3項記載の多糖体。

5. 構成糖のモル比が、アラビノース約29.3、ガラクトース約22.8、マンノース約0.8、グルコース約5.8、ラムノース約14.7、ガラクトン酸約20.4、グルクロン酸約3.4、フコース約1.2、2-メチルフコース約0.03、キシロース約1.3、2-メチルキシロース約0.2で、分子量が約 $8.8 \times 10^5$ である請求の範囲第3項記載の多糖体。

6. 構成糖のモル比が、アラビノース約20.3、ガラクトース約28.5、マンノース約2.8、グルコース約7.7、ラムノース約7.7、ガラクトン酸約19.5、グルクロン酸約10.9、フコース約1.5、2-メチルフコース約0.02、キシロース約1.0、2-メチルキシロース約0.02で、分子量が約 $8.8 \times 10^4$ である請求の範囲第3項記載の多糖体。

7. 更に、マンノース、フコース、キシロース及び2-メチルキシロースを構成

糖として含む請求の範囲第1項記載の多糖体。

8. 構成糖のモル比が、アラビノース10.0～30.0、ガラクトース10.0～30.0、マンノース0.5～4.0、グルコース2.5～15.0、ラムノース7.0～18.0、ガラクツロン酸17.0～47.0、グルクロン酸3.0～11.0、フコース0.5～2.5、キシロース0.2～2.0、2-メチルキシロース0.3以下である請求の範囲第7項記載の多糖体。

9. 構成糖のモル比が、アラビノース約24.7、ガラクトース約19.4、マンノース約1.4、グルコース約3.3、ラムノース約17.7、ガラクツロン酸約23.0、グルクロン酸約8.8、フコース約1.2、キシロース約0.4、2-メチルキシロース約0.01以下で、分子量が約 $8.6 \times 10^5$ である請求の範囲第8項記載の多糖体。

10. 構成糖のモル比が、アラビノース約22.1、ガラクトース約17.9、マンノース約3.2、グルコース約14.4、ラムノース約11.2、ガラクツロン酸約18.1、グルクロン酸約9.6、フコース約1.9、キシロース約1.6、2-メチルキシロース約0.01以下で、分子量が約 $8.6 \times 10^5$ である請求の範囲第8項記載の多糖体。

11. 構成糖結合様式として、1,2結合ラムノース、1,2,4分岐ラムノース、末端アラビノフラノース、1,5結合アラビノフラノース、1,3,5分岐アラビノフラノース、末端ガラクトース、1,6結合ガラクトース、1,4結合ガラクトース、1,4,6分岐ガラクトース、末端グルコース、末端ガラクツロン酸及び1,4結合ガラクツロン酸を含む請求の範囲第1項記載の多糖体。

12. 請求の範囲第1項記載の多糖体を有効成分として含有する放射線防護剤。

13. 当帰の抽出物を有効成分として含有する放射線防護剤。

14. 当帰の抽出物が熱水抽出エキスである請求の範囲第13項記載の放射線防護剤。

15. 有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水可溶性の多糖体である請求の範囲第13項記載の放射線防護剤。

16. 有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水不溶性の多糖体である請求

の範囲第 13 項記載の放射線防護剤。

17. 請求の範囲第 1 項記載の多糖体を有効成分として含有する組成物を使用することを特徴とする放射線被曝による障害の治療及び予防方法。

18. 当帰の抽出物を有効成分として含有する組成物を使用することを特徴とする放射線被曝による障害の治療及び予防方法。

19. 当帰の抽出物が熱水抽出エキスである請求の範囲第 18 項記載の放射線被曝による障害の治療及び予防方法。

20. 有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水可溶性の多糖体である請求の範囲第 18 項記載の放射線被曝による障害の治療及び予防方法。

21. 有効成分が当帰の熱水抽出エキスから得られる水不溶性の多糖体である請求の範囲第 18 項記載の放射線被曝による障害の治療及び予防方法。



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP94/01385

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl<sup>6</sup> C08B37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl<sup>6</sup> C08B37/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, A, 63-61003 (Taito K.K.), March 17, 1988 (17. 03. 88), Lines 4 to 9, lower left column, page 1 & US, A, 4,965,354	1-21

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

October 3, 1994 (03. 10. 94)

Date of mailing of the international search report

October 25, 1994 (25. 10. 94)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. <sup>6</sup> C08B37/00		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. <sup>6</sup> C08B37/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, A, 63-61003 (台糖株式会社), 17. 3月. 1988 (17. 03. 88), 第1頁左下欄, 第4行-第9行&US, A, 4,965,354	1-21
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
03. 10. 94	25.10.94	
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 弘 實 謙 二	4 C 7 4 3 3
電話番号 03-3581-1101 内線		3454